Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität, Münster in Westfalen.

Der Einfluß der Pankreatinverdauung auf körpereigene Wirkstoffe. Versuche mit Fibrin, Serum und Lebergewebe.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

der hohen medizinischen Fakultät

der

Westfälischen Wilhelms-Universität

zu Münster i. Westf.

vorgelegt von

Wilhelm Nolten

aus Bochum / Westf.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i. W.

1937

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.).

Dekan: Dr. K. W. Jötten.
Referent: Prof. Dr. Lendle.

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Dezember 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Den vorliegenden Untersuchungen lag eine ähnliche Fragestellung zugrunde wie den Versuchen von Krumfuß[1]) über die Beeinflussung von körpereigenen Wirkstoffen durch Trypsin. Statt des Trypsins wurde Pankreatin verwendet, das sämtliche Fermente des Pankreassekretes enthalten soll. Es sollte die Frage entschieden werden, ob bei der Verdauung von Eiweißkörpern und tierischem Gewebe durch die Fermente des Pankreassaftes die körpereigenen Wirkstoffe verändert werden und ob dabei neue pharmakologisch wirksame Stoffe entstehen. Als Fermentpräparat diente das Pankreatin des Handels, welches proteolytische, diastatische und fettspaltende Fermente enthält.

Als Substrate wurden Fibrin, Serum und Lebergewebe verwendet. Nach längerer Einwirkung von Pankreatin auf die genannten Stoffe wurden die Verdauungsgemische zu wässerigen und alkoholischen Extrakten verarbeitet und auf pharmakologische Wirksamkeit geprüft.

---

[1]) A. Krumfuß, Inaug.-Dissertation, Münster Westf. 1935.

I. Allgemeine Versuchsanordnung.

Die wässerigen Extrakte wurden nach der Verdauung entweder durch Dialyse oder durch Enteiweißung mit Trichloressigsäure gewonnen.

Zur Gewinnung eines Dialysates wurden die Verdauungsgemische in Dialysierhülsen (Schleicher und Schüll) eingefüllt und gegen aq. dest. etwa 24 Stunden dialysiert. Nach Erneuerung des aq. dest. wurde weitere 24 Stunden dialysiert, beide Dialysate vereinigt, neutralisiert und im Vakuum bei 40—50° C zur Trokkene eingeengt. Der Rückstand wurde in aq. dest. gelöst und als „Dialysat" pharmakologisch untersucht.

Der Trichloressigsäureextrakt wurde gewonnen durch Enteiweißen des Verdauungsgemisches mit Trichloressigsäure in Substanz. Nach Abnutschen vom gefällten Eiweiß wurde das eiweißfreie Filtrat (Sulfosalicylsäureprobe!) durch kontinuierliche Aetherextraktion im modifizierten Soxlethapparat von der überschüssigen Trichloressigsäure befreit. Die neutralisierte Lösung wurde im Vakuum bei 40—50° C eingeengt und der trockene Rückstand nach Lösen in aq. dest. als „Tr-Filtrat" pharmakologisch untersucht.

Die Herstellung der alkoholischen Extrakte geschah nach einem von Best, Dale, Dudley und Thorpe[1]) zum Nachweis histaminähnlicher Substanzen angegebenen Verfahren: Das Verdauungsgemisch wurde mit der doppelten Menge 96%igen Alkohol versetzt und nach 24stündigem Stehen im Eisschrank filtriert. Das mit Schwefelsäure (4 ccm 20%ige Schwefelsäure auf 1000 ccm) angesäuerte Filtrat wurde nach weiterem 24stündigem Stehen filtriert und nach Neutralisation im Vakuum bei 40—50° C auf ein möglichst kleines Volumen eingeengt. Die Lösung wurde durch Zusatz von absolutem Alkohol zu einer 80%igen alkoholischen

[1]) C. H. Best, H. H. Dale, H. W. Dudley und W. V. Thorpe, Journ. of physiol. **62**, 397 (1927).

Lösung gemacht und nunmehr durch Versetzen mit dem dreifachen Volumen Aceton gefällt. Die Fällung soll nach den obengenannten Autoren 70 % der depressorischen Substanzen im tierischen Gewebe enthalten. Nach Zipf[2]) geht auch ein großer Teil der adenosinartigen Stoffe in diese Fällung über. Nach Abtrennen der überstehenden Lösung wurde die Fällung getrocknet, in aq. dest. gelöst und in zwei Teile geteilt. Der eine Teil wurde im siedenden Wasserbade der Hydrolyse in 3—4%iger Salzsäure unterworfen, nach Abkühlung neutralisiert, filtriert und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Der zweite gleichgroße Teil wurde ohne Hydrolyse ebenso behandelt. Beide Lösungen wurden als nicht hydrolysierte und hydrolysierte „Acetonfällung" zusammen mit dem „Dialysat" und dem „Tr-Filtrat" am Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose und am isolierten Kaninchendünndarm auf Wirksamkeit geprüft. Das mit Aether tief narkotisierte Kaninchen wurde gewählt, um an einer evtl. auftretenden Blutdrucksteigerung histaminähnliche Substanzen nachweisen zu können. Cholinähnliche Stoffe konnten durch Ausschalten der Wirkung mittels Atropin an beiden Testobjekten nachgewiesen werden. Adenosinartige Stoffe konnten durch die darmhemmende Wirkung von anderen Substanzen abgegrenzt und durch Säurehydrolyse ausgeschaltet werden.

II. Versuche mit Fibrin.

Der Ansatz bestand aus 10 g pulverisiertem Fibrin und 200 ccm aq. dest. Nach 15 Minuten Erhitzen im siedenden Wasserbad und Abkühlen wurden 2,5 g Natriumkarbonat, 0,5 g Pankreatin und 4 ccm Toluol zugesetzt und das Gemisch 48 Stunden bei 39° C bebrütet. Das verdaute Gemisch wurde in der oben angegebenen Weise auf „Tr-Filtrat" und „Acetonfällung" verarbeitet.

Das „Tr-Filtrat" senkte den Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose und hatte am isolierten Kaninchendünndarm eine hemmende Wirkung. Atropin schwächte die depressorische Wirkung leicht ab, ließ aber die darmhemmende Wirkung praktisch unbeeinflußt. Die „Acetonfällung" wirkte auf den Blutdruck

---

[2]) K. Zipf, Arch. exp. Pathol. **160,** 579 (1931).

ebenfalls depressorisch, aber stärker als das „Tr-Filtrat". Atropin schwächte die Wirkung leicht ab. Durch Säurehydrolyse wurde die blutdrucksenkende Wirkung stark abgeschwächt. Die verbleibende Restwirkung verschwand unter der Einwirkung von Atropin. Die Darmtätigkeit wurde durch kleine Gaben zunächst kurz erregt und anschließend gehemmt. Größere Gaben zeigten nur darmhemmende Wirkung. Atropinvorbehandlung schaltete die erregende Darmwirkung aus. Säurehydrolyse schwächte die darmhemmende Wirkung stark ab.

Die übereinstimmende Wirkung von „Tr-Filtrat" und „Acetonfällung" beruhte auf der Anwesenheit von praeformierten „adenosinartigen" Stoffen und geringen Mengen cholinähnlichen Substanzen, deren Vorkommen in Fibrin auch von Grochowiak[3]) nachgewiesen wurde.

III. Versuche mit Serum.

In den Serumversuchen wurden jeweils 20 ccm Serum mit 80 ccm aq. dest., 0,5 g Natriumkarbonat, 0,2—0,5 g Pankreatin und 2 ccm Tolual versetzt. Nach 24stündiger Bebrütung bei 38° C wurde nach den oben beschriebenen Methoden auf „Dialysat", „Tr-Filtrat" und „Acetonfällung" verarbeitet.

Während das „Dialysat" nur eine geringe depressorische und darmhemmende Wirkung zeigte, wurde durch „Tr-Filtrate" und „Acetonfällung" der Blutdruck des Kaninchens in tiefer Aethernarkose stärker gesenkt. Auch die Darmwirkung war eine stärkere. Der hemmenden Wirkung ging stets eine kurze Erregung voraus. Durch Atropin wurde die Blutdrucksenkung kaum abgeschwächt. Dagegen wurde die darmerregende Komponente ganz aufgehoben. Von allen Extrakten wirkte die „Acetonfällung" am stärksten.

Im Serum wurden nach Verdauung mit Pankreatin die bekannten praeformiert vorkommenden adenosinartigen Stoffe, wenig cholinähnliche Substanzen, aber keine histaminähnlichen Körper nachgewiesen. Auch andere, bisher unbekannte, pharmakologisch wirksame Stoffe wurden nicht gebildet.

---

[3]) Grochowiak, Inaug.-Dissertation, Münster Westf. 1935.

IV. Versuche mit Lebergewebe.

Aehnlich verliefen die Verdauungsversuche mit frischer Kaninchenleber, in denen je 50 g fein zerkleinertes Lebergewebe mit 200 ccm aq. dest., 0,5 g Pankreatin und 5 ccm Toluol versetzt, 24 Stunden lang bei 38° C bebrütet und zum „Tr-Filtrat" und „Acetonfällung" verarbeitet wurden.

Die Leberextrakte hatten eine besonders starke Wirkung, die sich aber von der bekannten Wirkung unverdauter Extrakte aus frischem Lebergewebe nicht unterschied. Das „Tr-Filtrat" führte zur Blutdrucksenkung, die durch Atropin nicht abgeschwächt wurde. Der isolierte Kaninchendünndarm wurde durch „Tr-Filtrat" teils gehemmt, teils erregt. Bei kleinen Mengen traten Hemmung und Erregung zusammen auf. Große Gaben hatten eine rein hemmende Darmwirkung. Atropin hob die erregende Darmwirkung auf. Die „Acetonfällung" wirkte im gleichen Sinne. Der Blutdruck wurde gesenkt, Atropin schwächte die depressorische Wirkung ab und Säurehydrolyse hob einen großen Teil der Blutdrucksenkung auf. Am Darm trat die erregende Komponente etwas stärker hervor. Die Darmerregung verschwand auf Atropinzusatz.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Durch Einwirkung von Pankreatin auf Fibrin, Serum und Lebergewebe werden praeformierte adenosinartige und cholinähnliche Stoffe freigelegt.

2. Fibrin, frisches Rinderserum und frische Kaninchenleber enthalten weder Histamin noch histaminähnliche Substanzen. Durch Pankreatineinwirkung werden solche Stoffe nicht gebildet.

3. Bei der Pankreatinverdauung von Fibrin, frischem Rinderserum und frischer Kaninchenleber entstehen keine neuen pharmakologisch wirksamen Stoffe.

An dieser Stelle möchte ich es nicht versäumen, Herrn Professor Dr. Zipf für die Ueberlassung der Arbeit und vor allem Herrn Professor Dr. Lendle für die Uebernahme des Referates meiner Arbeit zu danken.

Lebenslauf.

Am 31. Mai 1909 wurde ich als Sohn des Schneidermeisters Anton Nolten und seiner Ehefrau Margarete, geb. Stolte, zu Bochum geboren. Nach bestandenem Abitur Ostern 1929 besuchte ich die Universitäten Freiburg i. Br. und Münster i. W. An der letztgenannten Universität legte ich im August 1932 mein ärztliches Vorexamen und im Dezember 1934 mein medizinisches Staatsexamen ab. Von dieser Zeit ab bin ich am St.-Josef-Hospital Bochum zunächst als Medizinalpraktikant, dann als Assistenzarzt tätig.